335—340

276(8)

动 物 学 研 究 14 (4): 335—340
Zoological Research

ISSN 0254-5853
CN 53-1040 / Q

大鼠内侧隔核对齿状回习得性 LTP 的调制*

陈燕勤　许世彤　区英琦
(华南师范大学神经生理研究室　广州　510631)

Q959.837

A

摘要　本工作观察到高频刺激(High-frequency stimulation, HFS)自由活动的大鼠内侧隔核(Medial Septal nucleus, MS)，对海马齿状回(dentate gyrus, DG)的群体峰电位(Population spike, PS)有一时性(1-2 h)的抑制作用。在明暗辨别学习中每次训练作业后立即给予 MS HFS，导致 DG 习得性长时程增强，(Long-term potentiation, LTP)的形成显著延缓，并且 PS 峰值增强的最高水平显著降低($P<0.001$)、辨别反应的习得相应延迟，但对 DG 习得性 LTP 的保持无影响。表明 MS 对 DG 习得性 LTP 的形成有抑制性作用。提示这可能是隔区参与学习和记忆的机制之一。

关键词：长时程增强，学习，记忆，内侧隔核，齿状回

鼠科

已有工作表明，突触传递的习得性 LTP 极可能是学习和记忆的神经基础之一（许世彤等，1990)。一般认为脑的高级功能是由环路活动所实现的，故在探讨学习和记忆的突触机制中，考察各种调制性因素的作用显然是很重要的。海马结构在学习和记忆中有重要作用。已知海马习得性 LTP 受乳头体（Wang ji 等，1992)和蓝斑(Song Yueping 等，1992)的调制。隔区与海马在结构上和功能上关系密切。低等哺乳类（大鼠）和灵长类动物的隔区的结构基本相似。隔区到海马的投射（主要至海马齿状回的彩粒细胞层）是海马的重要输入。本工作在大鼠学习中应用高频电刺激内侧隔核的方法，观察它对海马 DG 的习得性 LTP 的影响，以探讨隔区在习得性 LTP 形成中的作用。

实 验 方 法

实验用 SD 系成年大鼠，分为实验组(n=9)及对照组(n=7)。实验组动物于每日训练作业结束并测定 DG 的 PS 后，立即通过预先埋植的刺激电极进行 MS 高频刺激处理。高频刺激参数是：波宽 0.1 ms；强度 0.3—0.5 mA；频率 100 Hz；串长 1 s，共 10 串；串间隔 1 min。对照组只埋植电极而不进行高频刺激处理。

各组动物均在无菌条件下进行埋植电极手术。刺激电极由两根绝缘的直径为 140 μm 的镍铬合金丝扭在一起制成，两尖端相距 0.2—0.4 mm；记录电极为一枚直径为 0.2 mm 的绝缘不锈钢针，尖端阻抗 1—3 MΩ。按布瑞希等图谱，记录电极植

* 国家自然科学基金资助项目。
本文 1992 年 8 月 26 日收到，同年 11 月 14 日修回。

于海马DG的夥粒细胞层，定位为：AP 3.2—3.4，R 1.9—2.1，H 3.0—4.0。用于检测DG的PS的刺激电极，植于内嗅区穿通纤维(PP)，定位为：AP 6.5—7.5，R 4.2—4.4，H4.0—5.5。供HFS的刺激电极植于MS，参照Fantie(1982)工作 定位为：AP −0.5，R0，H 5.0—6.0。手术后待动物康复后方进行实验。实验完毕，进行电极定位检查，本文所列数据均为电极定位准确者。

学习模型为明暗辨别学习。在MD-IA型三等分辐射式迷宫箱内进行。每实验日进行10次训练测试，两次测试的间隔为30—40 s，以连续10次测试中有9次出现走入安全区的正确反应为达到学会标准。以连续两个实验日正确反应率都在90%以上为达到巩固标准。

DG的PS的检测是在动物处于安静、可自由活动的状态下，于每个实验日训练作业前及作业结束时进行。在动物正确反应率达60%左右的该实验日，还检测作业结束再经HFS处理MS后0—12 h期间PS的发展情况。检测刺激为固定强度的单个方波(取刚能诱发最大PS的强度的1／3或1／2)，波宽0.1 ms。PS经微电极放大器和前置放大器放大，输入KSD-型生理数据处理机处理并由示波器监测，经8次迭加平均后由X-Y记录仪描记。分析PS的峰值、潜伏期，测定EPSPs斜率与PS作相关分析。

结 果

一、内侧隔核HFS对DG的PS的影响 大鼠内侧隔核HFS后，PP-DG的PS的变化如表1。

表1 大鼠内侧隔核HFS对DG的PS的影响

Tab. 1 The effects of HFS of MS on PS in DG of the rat (mean ± SD, n = 9)

	Amplitude (%)	Onset latency (ms)	Peak latency (ms)
Before HFS	100	100	100
At the end of HFS	51.6 ± 20.2	111.4 ± 9.3	111.9 ± 11.2
After HFS:			
0.5 h	74.4 ± 11.9	105.7 ± 6.0	106.0 ± 4.8
1.0 h	84.4 ± 9.0	102.4 ± 6.0	104.3 ± 2.9
2.0 h	99.1 ± 2.4	97.6 ± 4.8	100.0 ± 4.8
3.0 h	98.8 ± 0.6	97.6 ± 2.9	97.4 ± 4.3

从表1可见，MS的HFS对DG的PS的影响是一时性的，HFS刚结束时DG的PS即出现明显的抑制，峰值下降，潜伏期延长。其后则逐渐恢复，至第2 h已恢复至HFS前水平。

二、内侧隔核HFS处理对DG习得性LTP形成的影响 每日训练作业结束时作内侧隔核HFS处理，延缓了DG的习得性LTP的形成。结果见图1。

从图1可见，随行为训练实验组大鼠DG的PS峰值逐渐增大，但每日PS增大的程度显著低于对照组($P<0.001$)，且PS峰值增大的最高水平也显著低于对照组

(P<0.001)。对 PS 峰值的变化与 EPSPs 斜率的变化作相关分析，实验组与对照组同样是呈显著正相关关系；在实验组，相关系数为 0.9426，P<0.01；在对照组，相关系数为 0.9665，P<0.01。实验组动物达学会标准所需训练次数为 33.7±10.1 次，比对照组动物只需 22.4±3.1 次显著增多(P<0.001)。不过，如图 1 所示，实验组动物和对照组动物，同样是 PS 增强达最高水平的时间先于动物正确反应率达学会标准的。

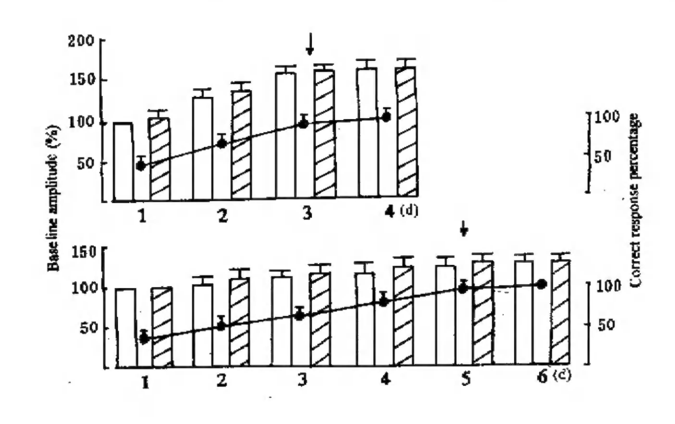


图 1　内侧隔核 HFS 处理对大鼠明暗辨别学习中 PS 峰值变化的影响

Fig. 1　HFS-treatment effects of MS on the alteration of PS amplitude in the rat DG during the discrimination learning

A. Control group (n=7); B. Exptl. group (n=9); □ Amplitude of PS before training sessions; ▨ Amplitude of PS after training sessions; ●—● correct response percentage; Arrow: reaching the acquired criterion

三、内侧隔核 HFS 处理对训练作业后 DG PS 增强的发展的影响　在动物正确反应率达 60%左右该实验日，检测训练作业后 12 h 内 DG 的 PS 的变化，发现内侧隔核 HFS 处理对训练所引起的 DG 的 PS 增强的发展有阻抑作用。结果见表 2。

表 2　大鼠训练作业后作内侧隔核 HFS 处理后 12 h 内 DG 的 PS 峰值(百分数)的变化

Tab. 2　The alteration of PS amplitude (percentage) of DG by administratiog HFS of MS 0–12 honrs after training session in rat

At the end of groups of training Sessions at the end of HFS			After HFS						
			0.5 h	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	12 h
Control (n=7)	100	—	—	109.5±7.6	116.0±10.5	128.6±14.3	133.4±10.5	128.2±11.9	131.1±11.9
Exptl (n=9)	100	47.2±15.0	63.4±9.5	79.6±13.3 ***	94.5±9.5 **	100.9±9.5 ***	102.9±9.5 ***	101.5±11.4 ***	102.8±11.4 ***

** p<0.01，*** p<0.001，Compared with the control.

从表 2 可见，实验组动物与对照组一样，DG 的 PS 峰值的增大是在训练作业结束后 3 h 达饱和水平，表明内侧隔核 HFS 处理对 DG 的 PS 增强至饱和水平所需时间无明显影响。但 PS 峰值增大的程度，包括其饱和水平，则极显著地低于对照组，表明内侧隔核 HFS 处理，对训练作业引起的 DG 的 PS 增强的程度有很大的抑制作用。

四、内侧隔核 HFS 处理对 DG 习得性 LTP 巩固的影响　内侧隔核 HFS 处理不影响 DG 习得性 LTP 的巩固。在动物 DG 的 PS 峰值达最高水平后再进行巩固性训练，结果大多数动物(7／9)PS 峰值仍保持于该水平，相应地动物的正确反应率也保持在

90%以上，这与对照组无异。少数动物(2／9)出现下降，1只动物由115.8%降至96.8%，另1只由142.9%降至108.6%，但经1或2次巩固性训练后，均恢复并保持在原先所达到的最高水平，且动物的行为的正确反应率，亦随PS的降和升而相应地降低和增大。

讨 论

本实验是通过每日训练作业后给内侧隔核以高频刺激，观察此种处理对大鼠DG的习得性LTP的形成和保持及行为习得的影响，探讨内侧隔核的作用。而这方面的作用是有其结构基础的。研究已表明，大鼠隔区是从内侧隔核发出纤维投射至海马的，且主要是至DG门区的夥粒细胞层(Fernada 等，1990)。至于对内侧隔核所作的HFS处理，由于所用的电流强度仅为0.3—0.5 mA，每实验日只进行串长为1 s、串间隔为1 min的10串刺激，故它不会对脑组织构成损害，实验结束对刺激部位作检查也未见有损害。因此，实验中DG的PS所出现的变化，应仅是反映内侧隔核受HFS所引起。

本研究表明MS的HFS处理对DG的PS和习得性LTP有抑制性影响。我们推测这一作用有可能是通过Ach能通路作用于DG中的抑制性中间神经元来实现的。我们有工作(许世彤等，1990)表明，GABA受体参与海马习得性LTP的形成，应用GABA受体阻断剂可易化习得性LTP的产生。而有关强直性LTP形成机制的研究也表明，GABA能抑制系统参与它的形成，并随着LTP的形成又会抑制GABA能系统的活动(Ceri 等，1991)。但还有另一种可能，即通过隔区的GABA能通路对DG夥粒细胞的直接投射所实现。有工作发现，隔–海马通路除胆碱能纤维外，尚有非胆碱能纤维，后者可能多达50% (Amaral 等，1985)；又曾发现有大群投射到DG的隔神经元含有GABA合成酶——谷氨酸脱羧酶(GAD)，提示到达DG的隔投射中有相当数量的纤维是GABA能的(Bilkey 等，1987)，因此通过这一途径直接影响DG的习得性LTP的形成也不是没有可能的，这有待进一步研究方能阐明。也许隔区还可能通过别的脑结构影响DG的习得性LTP的产生，但无论其具体机制如何，本实验结果表明，内侧隔核对DG的习得性LTP的形成是有调制作用的。

在本实验中，内侧隔核对DG的习得性LTP形成的抑制性作用，其主要特点是：降低训练作业所引起的PS增强的程度，以及增加PS增强至最高水平所需的训练，延长了PS达最高水平所需时日，而不影响它的保持。所以会出现这样的效应，看来是由于其作用只是影响训练作业所引起的突触效能增强的始动与发展过程，而不作用保持过程。有关强直性LTP机制的研究，已证明它有启动机制、形成机制与保持机制(Nicoll 等，1988)。启动机制和形成机制主要与兴奋性氨基酸的释放、NMDA受体的激活、突触后去极化及Ca^{2+}内流等有关，而保持机制主要涉及蛋白激酶的激活，某些新蛋白质的合成以至突触形态、结构的改变(Bengt 等，1988)。我们有工作提示，习得性LTP也可能存在类似的几种机制(戴远威等，1991)。既然在本实验中MS的HFS对DG的作用主要是在刺激时及其后的0.5 h内，1 h后效应已极弱，而训练作业引起的DG突

触效应的增强是在作业后 3 h 方达饱和水平，故可以认为，MS 的 HFS 对 DG 的作用，应是影响突触效应增强的早期的形成阶段，而不影响此增强的保持，因此只使增强幅度减少。又由于需习得性 LTP 达最高水平后动物行为的正确反应率(或条件反应率)方达最高水平(许世彤等，1990)，而 MS 的 HFS 既然导致训练作业引起的 PS 增强的程度减少，这样一来，PS 增强达最高水平所需的行为训练自然要增多。

必须指出，本实验结果虽提示内侧隔核可能对 DG 的习得性 LTP 有抑制性调制作用。但鉴于 MS 与 DG 联系的复杂性，也许这只是其中的一种调制方式。同样，它也可能仅仅是隔参与学习和记忆的机制之一。

参 考 文 献

J 布瑞希等 (范世潘等译). 1963. 电生理学方法. 上海科学技术出版社, 359—361.

许世彤, 区英琦. 1990. 突触传递的习得性长时程增强. 广东生理学报, 7(1—2): 80—81.

戴远威, 许世彤, 区英琦. 1991. 不同发展阶段的习得性长时程增强对新学习的影响. 心理学报, 23(4): 97—103.

Amaral D G, Kurz J. 1985. An analysis of the origins of the cholinergic and noncholinergic septal projection to hippocampal formation of rat. *The J. of Comp. Neurol.*, **240**: 37.

Bengt Gustafsson, Holger Wigstrom. 1988. Physiological mechanisms underlying long-term potentiation. *TINS*, **11**(4): 156—161.

Bilkey D K, Goddard G V. 1987. Septo-hippocampal and commisual pathways antagonistically control inhibitory interneurons in the dentate gyrus. *Brain Res.*, **405**: 320—325.

Ceri H Davies, Sarah J Starkey, Mario F Pozza *et al.* 1991. GABA autoreceptors regulate the induction of LTP. *Nature*, **349**: 609—611.

Fantie B D, Goddard G V. 1982. Septal Modulation of the population spike in the fascia dentate produced by perforant path stimulaton in the rat. *Brain Res.*, **252**: 227—237.

Fernanda H, Lopes da Silva, Menao P Witfer *et al.* 1990. Anatamic organization and physiology of the limbic cortex. *Physiol. Rev.*, **70**(2): 462—464.

Nicoll R A, Kauer J A, Malenka R C. 1988. The current excitement in long-term potentiation. *Neuron*, **1**: 97—103.

Song Yueping, Xu Shitong, Ou Yingqi. 1992. Effect of norepinephrine (NE) on the Learing-dependent long-term synaptic potentiation of the rat hippocampal dentate gyrus. *Chinese J. of Physiological Sciences*, **8**(1): 83—84.

Wang Ji, Xu Shitong, Ou Yingqi. 1992. Modulatory effect of mammillary body on learing-dependent Long-term potentiation (LTP) in the dentate gyrus of rat hippocampus. *Chinese J. of Physiological Sciences*, **8**(1): 84.

THE MODULATION OF MEDIAL SEPTAL NUCLEUS ON LEARNING–DEPENDENT LONG–TERM POTENTIATION IN THE RAT DENTATE GYRUS

Chen Yanqin Xu Shitong Ou Yingqi

(Neurophysiology Research Laboratory, South China Normal University, Guangzhou 510631)

Population Spike (PS) elicited by perforant path stimulation in the dentate gyrus (DG) of freely moving rats was recorded. Rats were trained on discrimination learning. The results were as follows: (1) High– frequency stimulation (HFS) of the medial septal nucleus (MS) temporarily caused a suppression of PS in DG; (2) HFS of MS following daily training session caused a significant suppression of the development of learning–dependent long–term potentiation (LDLTP), and correspondingly, a prevention of the acquisition of discriminative responding; (3) HFS of MS resulted in a significant decrease ($P<0.01$) of the maximal level of the potentiation of PS amplitude. These results suggest that MS exerts an inhibitory modulated effects on LDLTP in DG, which mainly affects the development of LDLTP.

Key words: Long–term potentiation, Learning, Memory, Medial Septal Nucleus, Dentate gyrus